

整理番号:H400013

発送番号:592499 発送日:平成19年11月20日

1

## 拒絶理由通知書

(Notice of the Rejection)

(Japanese Patent Application No. 2004-059720)

特許出願の番号

特願 2004-059720

起案日

平成19年11月13日

特許庁審査官

佐藤 巖

3334 4B00

特許出願人代理人

平木 祐輔 様

適用条文

第29条第2項、第36条

期 限	20. 1. 21
-----	-----------

この出願は、次の理由によって拒絶をすべきものです。これについて意見がありましたら、この通知書の発送の日から60日以内に意見書を提出してください。

### 理 由

理由1 この出願の下記の請求項に係る発明は、その出願前に日本国内又は外国において、頒布された下記の刊行物に記載された発明又は電気通信回線を通じて公衆に利用可能となった発明であるから、特許法第29条第1項第3号に該当し、特許を受けることができない。

理由2 この出願の下記の請求項に係る発明は、その出願前に日本国内又は外国において、頒布された下記の刊行物に記載された発明又は電気通信回線を通じて公衆に利用可能となった発明に基いて、その出願前にその発明の属する技術の分野における通常の知識を有する者が容易に発明をすることができたものであるから、特許法第29条第2項の規定により特許を受けることができない。

理由3 この出願は、発明の詳細な説明の記載が下記の点で、特許法第36条第4項に規定する要件を満たしていない。

理由4 この出願は、特許請求の範囲の記載が下記の点で、特許法第36条第6項第2号に規定する要件を満たしていない。

記 (引用文献等については引用文献等一覧参照)

#### 【理由1について】

- ・請求項: 10
- ・引用文献等: 1
- ・備考: 文献1には、増幅されるゲノムの塩基配列に対して特異的でないレポーター配列を含み、その5'末端がFAMまたはTETという蛍光体で修飾され、その3'末

端がTAMRAという消光体で修飾されたプローブを用いて、遺伝子型を決定する方法が記載されている(特に、Table. 1, Fig. 1参照)。

そして、当該遺伝子型を決定する方法に用いるキットは、文献1に記載されているに等しい。

ここで、上記請求項に係る発明と、文献1に記載の発明を対比すると、両者の発明は区別し得ない。

#### 【理由2について】

・請求項：1-13

・引用文献等：1～3

・備考：文献2には、標的核酸に、アダプター配列を含むシグナルプライマーをハイブリダイゼーションするステップと、当該シグナルプライマーを伸長して伸長産物を作成するステップと、当該伸長産物に増幅プライマーをハイブリダイゼーションし、当該増幅プライマーを伸長して、前記アダプター配列の相補鎖を含む伸長産物を作成するステップと、当該伸長産物のアダプター配列の相補鎖に、レポータープローブのレポーター部分をハイブリダイゼーションすることによって、2本鎖レポーター部分を作成するステップとを有し、当該2本鎖レポーター部分を検出することにより、標的核酸を増幅および検出する方法が記載されている(特に、請求項5参照)。

さらに、標的核酸の増幅を、いわゆるNASBA法で行うことが記載されており、NASBAの増幅プライマーは5'側末端付近にRNAポリメラーゼのプロモーターを含むことが記載されている(特に、段落【0010】参照)。

加えて、シグナルプライマーは、標的の相補的配列にハイブリダイゼーションする3'側標的結合配列を含み、標的に相補的でない5'末端配列(アダプター配列)を含むことが記載されている(特に、段落【0008】，【0013】参照)。

そして、レポータープローブのレポーター部分を蛍光ドナー／消光色素対で標識して、2本鎖レポーター部分を、蛍光の増加によって検出することが記載されている(特に、段落【0031】参照)。

ここで、文献2と同じく、両端を蛍光体と消光体でそれぞれ標識したプローブを、標的核酸を増幅した核酸にハイブリダイゼーションさせ、増幅核酸とプローブとの2本鎖の形成を、蛍光の増加によって検出する方法であって、5'エキソヌクレアーゼ活性を有する酵素で2本鎖を形成したプローブを分解する方法は、文献1に記載の通り公知であり、プローブとして、RNAとDNAのキメラプローブを用いて、RNAaseHにより2本鎖を形成したプローブを分解する方法は、文献3に記載の通り公知である。

そうしてみると、文献2の標的核酸を増幅および検出する方法において、2本鎖レポーター部分を検出するため、文献1または文献3のように、プローブを分解することは、当業者が容易に想到し得たものである。

さらに、アダプター配列を、シグナルプライマーに含ませることに代えて、増

幅プライマーに含ませること等は、当業者が適宜なし得たものである。

そして、それらのことによる効果は、格別のものとは認められない。

【理由3について】

A) 請求項1, 2, 4-9に係る発明は「分析対象遺伝子に対し、逆転写酵素と、RNAポリメラーゼと、リボヌクレアーゼH及び／又はエキソヌクレアーゼとを用いて核酸増幅反応を行う（う）遺伝子検出法」であって、分析対象遺伝子が、一本鎖cDNAである、方法を含んでいると認められる。

この点について、「逆転写酵素」とは、通常、RNA依存性DNAポリメラーゼ活性を有するタンパク質の総称であるので、その中にはDNA依存性DNAポリメラーゼ活性を有さないものが含まれていると認められるところ、本件の発明の詳細な説明には、DNA依存性DNAポリメラーゼ活性を有さない逆転写酵素と、RNAポリメラーゼと、リボヌクレアーゼH及び／又はエキソヌクレアーゼとを用いて、一本鎖cDNAから核酸増幅反応を行うことができることは具体的に記載されていない。

そして、本件の出願時の技術常識からは、通常、一本鎖DNAから、DNA依存性DNAポリメラーゼ活性を有さない逆転写酵素またはRNAポリメラーゼにより核酸が合成されるとは認められないので、DNA依存性DNAポリメラーゼ活性を有さない逆転写酵素と、RNAポリメラーゼと、リボヌクレアーゼH及び／又はエキソヌクレアーゼとを用いて、一本鎖cDNAから核酸増幅反応を行うことができるとは認められない。

したがって、請求項1, 2, 4-9の遺伝子検出法を、当業者が使用することはできない。

よって、この出願の発明の詳細な説明は、当業者が請求項1, 2, 4-9に係る発明を実施することができる程度に明確かつ十分に記載されていない。

B) 請求項1-9に係る発明は、遺伝子検出法であって、RNAをリボヌクレアーゼHを用いて逆転写し、一本鎖cDNAを合成する、方法を含んでいると認められる。

この点について、「リボヌクレアーゼH」とは、通常、RNA/DNAハイブリッドの二重鎖を特異的に認識し、RNA鎖のみを加水分解するエンドヌクレアーゼ活性を有するタンパク質の総称であるので、その中にはRNA依存性DNAポリメラーゼ活性を有さないものが含まれていると認められるところ、そのようなRNA依存性DNAポリメラーゼ活性を有さないリボヌクレアーゼHを用いて、RNAを逆転写し、一本鎖cDNAを合成することができるとは認められない。

したがって、請求項1-9の遺伝子検出法を、当業者が使用することはできない。

。

よって、この出願の発明の詳細な説明は、当業者が請求項1-9に係る発明を実施することができる程度に明確かつ十分に記載されていない。

【理由4について】

## A) 請求項: 9, 11-13

請求項9には「2種以上のプローブの融解温度が実質的に同じである」と記載され、請求項11には「実質的に同じ融解温度を有する2種以上のプローブ」と記載されている。

この点について、「実質的に」と記載したことによって、融解温度に、どの程度違いがある2種以上のプローブまで、「実質的に同じ」ものに含まれるのかが不明確となるので、上記請求項に係る発明の範囲は不明確である。

よって、請求項9, 11-13に係る発明は明確でない。

## B) 請求項: 10-13

請求項10には「RNAポリメラーゼのプロモーター配列を含む第2の塩基配列について・・・プローブを少なくとも1種以上含む遺伝子検出キット」と記載されている。

この点について、「第2の塩基配列」と「プローブ」または「遺伝子検出キット」との関係が不明であるので、上記請求項に係る発明が不明確となっている。

よって、請求項10-13に係る発明は明確でない。

引用文献等一覧  
(List of the citations)

1. WHITCOMBE, D. et al., "A homogeneous fluorescence assay for PCR amplicons: its application to real-time, single-tube genotyping", Clinical Chemistry, (1998), Vol. 44, No. 5, pp. 918-923

2. 特開2002-45192号公報

3. 国際公開第98/04738号

(注) 法律又は契約等の制限により、提示した非特許文献の一部又は全てが送付されない場合があります。

-----  
先行技術文献調査結果の記録

・調査した分野           I P C   C 1 2 Q 1 / 6 8

・使用した電子データベース   MEDLINE/CA/BIOSIS/WPIDS (STN)

・先行技術文献           HOLLAND, P.M. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA,  
(1991), Vol. 88, pp. 7276-7280

この先行技術文献調査結果の記録は、拒絶理由を構成するものではない。

-----  
この拒絶理由通知の内容に関するお問い合わせ、または面接のご希望がございましたら下記までご連絡下さい。

特許審査第三部生命工学 佐藤 巖

TEL. 03(3581)1101 内線3448

FAX. 03(3501)0491